液態菌種於菇類產業之應用

石信德[1,*]、陳錦桐[1]、陳啟楨[2]

[1]農業試驗所植物病理組

[2]南台科技大學生物科技系

*通訊作者電子信箱：tedshih@tari.gov.tw

摘要

菇類生產需經菌種製作與培養、培養基質製作與菌種接種培養、出菇管理等三階段過程。一般菌種培養階段均利用麥粒、裸麥、高粱等穀類種子或木屑爲主配方製作固體菌種，再接種至培養基質中擴大培養，往往耗時費力，且易受雜菌污染，菌種穩定性差，菌絲常有生長不正常之現象發生，是目前菇類產業經營上所遭遇到的問題。相較於固體菌種，液態菌種係指生長在液體培養基中的菌種或菌絲體，在產業應用上又稱爲深層發酵或深層培養。爲因應菇類產業朝向自動化、規模化與國際化，菇類液態菌種之開發與應用已成爲未來發展的趨勢。應用液態菌種栽培菇類的優點有：1.降低生產成本。2.提升菌種產能(其生長速率快及高養分利用效率)。3.菌齡較短(生長週期短)、純度較高及活力強。4.縮短栽培時間及提早出菇。5.增加庫房周轉率、節省人力及固態菌種生產空間。6.可增加菌種自動化生產，減少勞力。7.菌種接種一致性。雖然液體菌種有許多好處，不過仍須注意事項有：1.從事菌種篩選及改良。2.考量適當的設備投資。3.注重乾淨的生產環境。4.建立標準操作技術及流程。5.增加菌種的櫥架壽命。

關鍵詞：液態菌種、菇類產業、接種機

緒言

菇類是人類日常生活中所不能欠缺的食物，也是農業重要產值來源，我國洋菇罐頭外銷量在1960-70年代爲世界第一，曾有洋菇王國的美譽。台灣目前栽種生產的菇類有香菇、金針菇、杏鮑菇、秀針菇、洋菇、鴻喜菇(白精靈，白玉菇)、木耳、靈芝、草菇、高溫菇、蠔菇、夏季鮑魚菇、巴西蘑菇、柳松菇、茶樹菇、珊瑚菇及猴頭菇等，總產值接近新台幣100億元。其中以太空包推廣栽培香菇數量已達1億六仟萬包，產值達新台幣27-28億元；另外，杏鮑菇自動化生產技術與品種改良已推廣商業化生產。近年來隨著消費型態的改變，各種食藥用菇類因其對人體具有特殊生理活性物質，如多醣體、三萜類、麥角固醇、核苷酸、蛋白多醣、核酸、有機鍺、食用纖維等，具有抗腫瘤、免疫調節、降血壓、降血糖、降膽固醇、抗細菌及病毒、延緩骨質疏鬆等保健功效，成爲新興健康食品及保健產品所開發的對象[2]。菇類產品之生產主要分爲子實體及菌絲體，子實體經由椴木栽培、木屑太空包或栽培瓶生產；菌絲體則需依賴液態培養而得。菇類生產需經菌種製作與培養、培養基質製作與菌種接種培養、出菇管理等三階段過程。一般菌種培養階段均利用麥粒、裸麥、高粱等穀類種子或木屑爲主配方製作固體菌種，再接種至培養基質中擴大培養，往往耗時費力，且易受雜菌污染，菌種穩定性差，菌絲常有生長不正常之現象發生，是目前菇類產業經營上所遭遇到的問題。相較於固體菌種，液態菌種係指生長在液體培養基中的菌種或菌絲體，在產業應用上又稱爲深層發酵或深層培養。爲因應菇類產業朝向自動化、規模化與國際化，菇類液體菌種之開發與應用已成爲未來發展的趨勢。

一、菇類液態菌種發展概況

1948年美國Humfeld氏首先採用並報導液體培養技術可以培養蘑菇(*Agaricus campestris*)菌絲體後，利用深層發酵技術培養各種食、藥用眞菌引起人們的極大重視。1958年Szuecs氏是第一個用發酵槽來培養羊肚菌（*Morchella esculenta*）菌絲體做爲食品調味料，從此食用菌之液態培養菌種的成功例子相繼出現。1975年日本杉恒武等人曾用1%的有機酸和0.5%的酵母膏作爲培養基，獲得到大量的香菇菌絲體。1960年中國陳美聿等人則對香菇進行深層培養研究後，大陸方面針對數十種食用菌已經有許多液態培養的研究[1]。國內菇類栽培業界對於液態菌種一直都採取觀望態度，到目前爲止僅少數菇農嘗試，限制了食用菌液態菌種的推展。

全世界已有許多食藥用菇類被嘗試開發做液體菌種，包括：牛樟芝(*Antrodia cinnamomea*)、洋菇(*A. bisporus*)、蘑菇(*A. campestris*)、巴西磨菇(*A. brasiliensis*)、毛木耳(*Auricularia auricula*)、黑木耳(*A. polytricha*)、金針菇(*Flammulina velutipes*)、北蟲草(蛹蟲草)(*Cordyceps militaris*)、舞菇(*Grifola frondosa*)、靈芝(*Ganoderma lucidum*)、猴頭菇(*Hericium crinaceum*)、香菇(*Lentinula edodes*)、滑菇(*Pholiota nameko*)、玉米菇(*Pleurotus citrinopileatus*)、杏鮑菇(*P. eryngii*)、香魏蘑(*P. ferulae*)、蠔菇(*P. oyster*)、鳳尾菇(*P. sajor-caju*)、美味側耳(*P. sapidus*)、草菇(*Volvariella volvacea*)等70餘種。據文獻指出由實驗室或小規模試驗結果發現，絕大多數的食藥用菇類的菌絲均能在適宜的培養條件下，於液態培養基中生長，並可做爲接種用之液態菌種[4,5,6]。近年來在荷蘭、美國、英國、大陸、日本及韓國，均有利用液態菌種進行菇類商業化運轉的案例，這些菇類如洋菇、杏鮑菇、金針菇、香菇及黑木耳等[3]。

二、液體菌種的製作、操作流程及培養的條件

(一)生產設備

1.搖床：利用三角玻璃燒瓶內的液體培養基於搖床中振盪培養生產。搖床的特性會影響氧氣的質傳效應，進而影響菌體的生長，因此通常根據實際情況選擇培養時的搖床種類及振盪速度。搖床的型式通常爲往復式及旋轉式，往復式的回轉速度爲80-140 rpm；旋轉式的回轉速度爲60-300 rpm。

2.生物反應器或發酵槽：利用攪拌式或氣舉式發酵槽，可進行菇類的液體菌種生產特定代謝產物，例如菇類多醣體或三萜等之深層培養。

(二)培養基

菇類的液體菌種發酵培養基組成包括：碳素源、氮素源、無機鹽、水份及其他微量元素等。根據不同菇類之生長考量其營養需求、原料來源、價格而設計其配方。常用的原料有：糖蜜、葡萄糖、砂糖、蔗糖、澱粉、馬鈴薯等充作碳源；玉米粉、黃豆粉、蛋白腖、酵母抽出物等充作氮源。此外，亦有添加維生素或無機鹽等。這些配方經高溫(121℃)及高壓15psi (100 KPa)滅菌30分鐘後備用。

配方實例：

(1)金針菇培養基配方爲：澱粉30公克/每公升、葡萄糖40公克/每公升、蛋白腖0.7公克/每公升、硫酸鎂0.3公克/每公升、磷酸二氫鉀0.7公克/每公升、B1維生素1.2毫克/每公升及1公升水。

(2)北冬蟲夏草培養基配方爲：葡萄糖20公克/每公升、馬鈴薯200公克/每公升、黃豆粉10公克/每公升、蛋白腖20公克/每公升、牛肉抽出物3公克/每公升、B1維生素20毫克/每公升、B2維生素10毫克/每公升及1公升水。

(三)操作流程

1.搖瓶操作：利用接種棒刮取已經成長在固態培養基的菇類菌絲塊(大小約爲0.5 x 0.5公分)；或0.5-3%接菌量(體積比)，於無菌操作箱中接種至三角燒瓶後，於適當溫度下進行(3-7天)搖床培養。

2.發酵槽操作：利用於搖瓶前培養之菌種進行擴大的菌種發酵生產。此階段的接菌量通常爲培養基的10-20%(體積比)。接種用的前培養菌種若先經均質化處理，再接種到液體培養基中，可以提高培養效率。

(四)液體菌種培養的條件

1.溫度：大多數的菇類菌絲體生長具有廣泛的溫度適應範圍，一般以18-30℃較爲適合，過高或過低的溫度均會影響其產量。

2.攪拌和通氣：經過除菌處理的空氣，方能進入發酵槽。氧氣供應量會直接影響菌體的生長代謝作用，因此爲了增進通氣效率及使每一個菌體細胞獲得充足的氧氣生長，必須透過攪拌來增加培養液中的溶氧量(dissolved oxygen, DO)。通氣的另一個作用是維持槽體的正壓，以防止空氣中雜菌污染培養液。攪拌速度通常爲150-180 rpm；通氣量則維持在1-5 vvm。

三、液態菌種的分析及檢查

(一) 生物質量：根據菌絲量及菌絲團大小判定液態菌種之質量。

1.菌絲量：經離心去除發酵上清液秤量鮮重，或將含水菌絲於烘箱中烘乾後秤量乾重。

2.菌絲團：80%以上的菌絲團直徑小於0.5毫米(mm)。

(二) 純度分析：判斷液態菌種是否遭受污染或不良生長。

1.感官分析：成熟的液態菌種具有菇類特有的味道，其發酵液較爲澄清透明，若有雜菌(通常爲細菌)污染時呈現混濁且具有異味(如酸、臭等)。

2.顯微鏡觀察：發酵過程中定時取樣，於光學顯微鏡下觀察菌絲體狀態，若發現異常菌絲體表示菌絲生長不良[(1)]。

四、液態菌種的接種

利用接種工具如分注器、接種槍或接種器將熟成的液態菌種，接種至栽培用太空包或塑膠瓶，例如將牛樟芝液態菌種以噴槍接種在椴木上，以進行後續的出菇管理階段。一般接菌量爲0.5-3% (體積比)。近年來亦有廠商開發液態菌種專用的接種平台機器，可確保在無菌狀態下進行接種工作，不過這類機器造價較爲昂貴，較適合較大規模的企業使用。南台科技大學所開發的液體菌種接種機具有半自動化特性適合一般栽培場使用，配合接種噴嘴設計爲45°細霧 噴出，可以均勻將菌種灑在塑膠栽培瓶瓶口表面及底部， 用本型液態菌種接種之金針菇栽培瓶，其平均金針菇菌種生長時間縮短7-10天，產量增加3-5%。

五、液態菌種的優點

應用液態菌種栽培食藥用菇類的優點有：1.降低生產成本。2.提升菌種產能(其生長速率快及高養分利用效率)(圖一)。3.菌齡較短(生長週期短)、純度較高及活力強。4.縮短栽培時間及提早出菇。5.增加庫房周轉率、節省人力及降低固態菌種生產空間。6.可增加菌種自動化生產，減少勞力。7.菌種接種一致性。

結 論

聯合國食品法規委員會所採用的危害分析關鍵控制點技術體系(Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP) 已被納入到食用菇類的自動化栽培體系中，配合接種機進行接種，其操作簡便快速可達到自動化及標準化的要求，得到高品質的菌種；不但方便管理，更具有產業優勢(圖二)。雖然液態菌種有許多好處，不過仍須注意事項有：1.從事菌種篩選及改良。2.考量適當的設備投資。3.注重乾淨的生產環境。4.建立標準操作技術及流程。5.增加菌種的櫥架壽命。台灣加入WTO後面臨各種外來的挑戰，食用菇類市場也同樣面臨強大的競爭，因此，筆者認爲菇類的栽培技術需要改變與創新才能迎接競爭與挑戰，要積極開發各種菇類的液態菌種技術，以提升國內菇類產業發展的國際競爭力。

引用文獻

1.呂作舟. 2008. 食用菌無害化栽培與加工. 化學工業出版. 487 pp。

2.陳美杏、呂昀陞、石信德. 2010. 新興菇類的栽培與發展. 科學發展446:8-15。

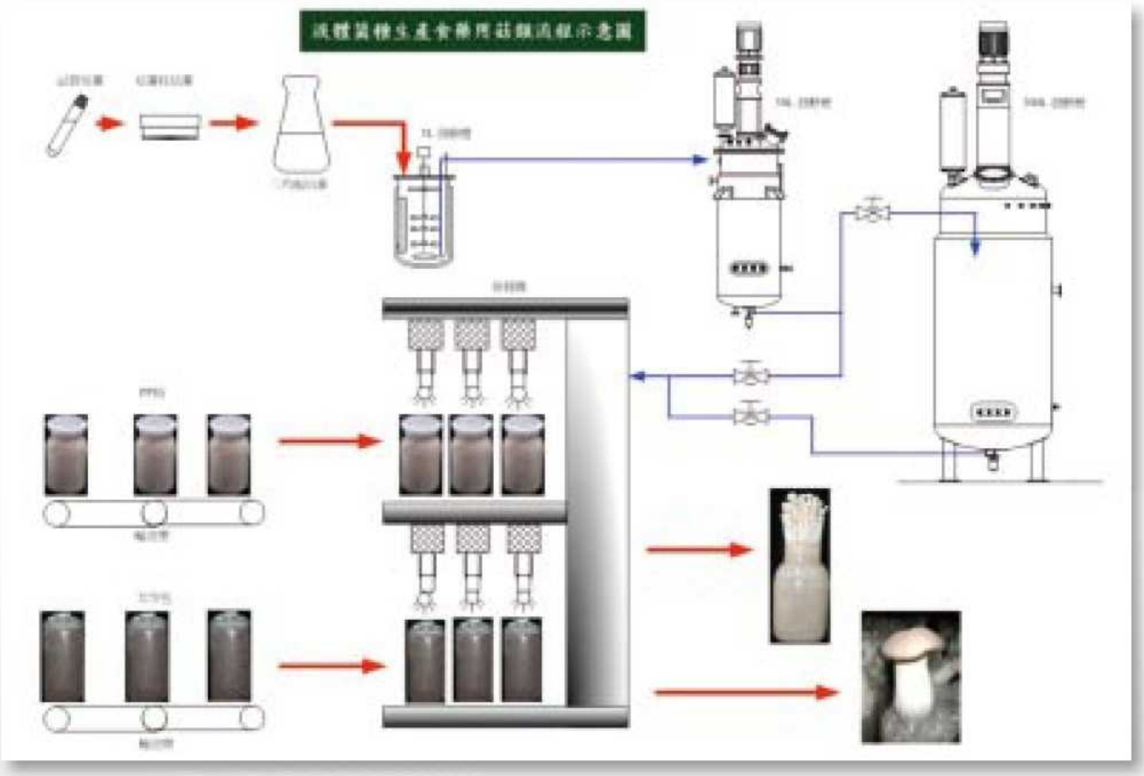
3.Eyal, J. 1991. Mushroom mycelium grown in submerged culture-potential food application. 31-64 pp. In: Biotechnology and food ingredients. Goldberg, I. and Williams, R., eds. Van Nostrand Reinhold, New York.

4.Friel, M. T. and McLoughlin, A. J. 2000. Production of a liquid inoculum/spawn of *Agaricus bisporus*. Biotechnol. Lett. 22:351-354.

5.Kawai, G., Kobayashi, H., Fukushima, Y. and Ohsaki, K. 1995. Effect of liquid mycelial culture used as a spawn on sawdust cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*). Mycoscience 37:201-207.

6.Leatham, G. F. and Griffin, T. J. 1984. Adapting liquid spawn *Lentinus edodes* to oak wood. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20:360-363.

圖一、農試所育成之杏鮑菇B012及ESPS品系子實體(上排爲木屑固態菌種栽培，下排爲液態菌種栽培)



圖二、液態菌種生產食藥用菇類流程示意圖

Development and Application of the Liquid Spawn for Mushroom Industry

Shih, Hsin-Der[1,*], Chen, Jin-Tong[1] and Chen, Chee-Jen[2]

[1]Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-Feng Taichung, Taiwan

[2]Department of Biotechnology, Southern Taiwan University, Tainan, Taiwan

[*]Corresponding author, E-mail：tedshih@tari.gov.tw

Abstract

Comparing liquid spawn with soil spawn, the liquid spawn possess the following merit, the short time of cultivating fungus, the quick velocity of sending out, the order of fungus age, and the convenient of inoculation etc. By the way, it is more convenient for the edible fungus on grand scale and industry production. There are few papers mentioned about the domestic research of liquid spawn production or extraction of metabolite. This article aims to introduce a model of liquid spawn for the winter mushroom cultivation, and apply to other edible or medicinal mushroom cultivation.

Key words: liquid spawn, mushroom industry, inoculums machine.